Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 4, Winter 2022, p. 459-470

Evaluation of the Effects of Copper Nanoxide and Celmanax Prebiotic on Growth Performance and Blood Cell Count in Holstein Suckling Calves

Vahid Vahedi[1]*, Nazileh Balapour[2], Taher Yalchi[3], Sayyad Seifzadeh[4], Jamal Seifdavati[5]

Received: 03-03-2021 Revised: 14-03-2022 Accepted: 10-04-2022 Available Online: 10-04-2022	How to cite this article: Vahedi, V., Balapour, N., Yalchi, T., Seifzadeh, S., & Seifdavati, J. (2022). Evaluation of the effects of copper nanoxide and celmanax prebiotic on growth performance and blood cell count in holstein suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *14*(3), 459-470. DOI: 10.22067/ijasr.2022.68668.1006

Introduction: Before weaning, dairy calves are susceptible to many pathogens and nutritional problems. For several years antibiotics have been used to overcome these problems also to obtain economic benefits in terms of improved calves performance and reduced medication costs. However, the use of antibiotics in animal husbandry is in question because of antibiotic resistance of microorganisms. In an effort to replace antibiotics from animal feeds, many additives have been proposed. Probiotic, prebiotics and Organic and inorganic mineral salts are examples of these additives. Prebiotics are non-digestible carbohydrates which are not metabolized in the small intestine and fermented in large intestine. Mannan oligosaccharides and β-glucan are prebiotics which derived from saccharomyeces cereviciae cell wall and are able to block fimbriae of patho genic bacteria, and thus prevent their adhesion to the mucous epithelium. The administration of prebiotic to calves can decrease coliform population of large intestine and colon of calves. More recently, prebiotics have been shown to have immune-enhancing characteristics Also, Copper is a microelement that is present in many important processes in the body and plays a vital role. Copper deficiency in some parts of the world is a major problem in ruminants. For this reason, dietary supplements are commonly used to regulate the diet of calf to compensate for copper deficiency. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effects of copper nanoxide and prebiotics on blood cell count and growth performance in Holstein suckling calves.

Materials and methods Twenty-eight Holstein calves with an average age of 1 to 8 days and an average weight of 39±1 kg were used in a factorial experiment as a completely randomized design with 4 treatments and 7 replications. Experimental treatments include: 1) Basal diet without additives, 2) Basic diet with 4 gr of prebiotic per day, 3) Basic diet with 15 ppm nanoparticles of copper per day, 4) Basic diet + 4 gr of prebiotic + 15 ppm nanoparticles of copper per day. The diet containing feed and milk was given two times a day i.e. in the morning (8:00 am) and evening (18:00 pm). Water was offered adlibitum. Whole blood samples were collected from jugular veins on d 60, approximately 3 h after the morning feeding. Samples were sent to the laboratory under refrigeration (4°C) till analyzed for WBC count, neutrophil, lymphocyte and monocyte concentration.

Results: The results showed that the copper nanoxide, prebiotics and the interaction of copper nanoxide and prebiotics could not affect the final weight of suckling calves. The results showed that feed intake, daily weight gain and feed conversion ratio of suckling calves were not significantly affected by supplementation of prebiotic and copper nanoxide in the diet during the first, second month and experimental period. Also, Body length, Wither height and Heart girth of Holstein suckling calves were not affected by copper nanoparticles and prebiotics supplementation. Prebiotic, copper nanoxide and their interaction had no significant effect on white blood cells, red blood cells, hemoglobin and hematocrit. In contrast, copper nanoxide and prebiotics significantly increased the neutrophil percentage ($P < 0.05$).

Research has shown that probiotic consumption had no significant effect on functional parameters of Baluch sheep including final weight, daily gain, feed intake and dietary intake. However the result of the other study

1, 2 and 3- Associate Professor, Graduated M.Sc. Student and Assistant professor, Department of Animal Science, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
4 and 5- Ph.D. Student and Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
*Corresponding Author Email: vahediv@uma.ac.ir

suggests that prebiotic can be supplemented to the calves for better performance. In contrary to the results of the present study, other researchers have indicated that copper nanoparticles could improve growth performance and modulate intestinal microflora and intestinalmucosal morphology in weaned piglets. In the study addition of pro- prebiotic and symbiotic to the whole milk of dairy female calves increased average daily gain but dry matter intake and blood parameters related to immune system and cell-mediated immune response were not affected. However, when a combination of probiotic and prebiotic added to the milk a better improvement in average daily gain was observed. A study reported that haematological traits (WBC count, neutrophil, monocyte, lymphocyte and hemoglobin) were unaffected by prebiotic and synbiotic in weaned pigs. However, the other study showed that immune parameters such as lymphocytes, leukocyte and neutrophils tended to increase in supplementation of symbiotic.

Conclusion In general, results of this experiment indicated that using prebiotics and copper nanoxide did not improve growth performance and blood cell count except neutrophil percentage.

Keywords: Copper nanoxide, Growth performance, Prebiotics, Suckling calves.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد ١٤، شماره ٤، زمستان١٤٠١، ص ٤٧٠-٤٥٩

بررسی اثرات نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد و شمارش سلول‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

وحید واحدی[1]*، نازیله بالاپور[2]،طاهر یلچی[3]، صیاد سیف‌زاده[4]، جمال سیف دواتی[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۱

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثرات نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر عملکرد و شمارش سلول‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود. تعداد ۲۸ رأس گوساله هلشتاین با میانگین سنی یک الی هشت روز و میانگین وزنی ۱±۳۹ کیلوگرم در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و هفت تکرار استفاده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه به همراه ۴ گرم پری‌بیوتیک در روز، ۳) جیره پایه به همراه ۱۵ میلی‌گرم نانو اکسید مس در روز، ۴) جیره پایه + ۴ گرم پری‌بیوتیک + ۱۵ میلی‌گرم نانو اکسید مس در روز بودند. نتایج نشان داد که عامل نانو اکسید مس، پری‌بیوتیک و اثر متقابل نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک نتوانست وزن نهایی گوساله‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، ضریب تبدیل غذایی و همچنین صفات دور سینه، طول بدن و ارتفاع از جدوگاه تحت تأثیر استفاده از نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین قرار نگرفتند. عامل پری‌بیوتیک، نانو اکسید مس و عامل متقابل آن‌ها اثر معنی‌داری بر درصد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت، هموگلوبین و هماتوکرین ایجاد نکرد. امّا عامل اثرات متقابل نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک درصد نوتروفیل را به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P<0/05$). نتیجه‌گیری می شود که استفاده از پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس نتوانست سبب بهبود عملکرد رشدی و شمارش سلولی‌های خونی به‌جز درصد نوتروفیل شود.

واژه‌های کلیدی: پری‌بیوتیک، عملکرد رشد، گوساله شیرخوار، نانو اکسید مس

مقدمه

در پرورش دام های اهلی مانند گاو و گوسفند، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر برای مقابله با بیماری‌ها و نواقص متابولیکی و همچنین برای بهبود راندمان خوراک مصرفی می‌باشد. ولی به‌خاطر شیوع باکتری‌های مضر و بیماری‌زا که به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند و برای انسان خطرناک می‌باشند، مصرف این مواد توسط اتحادیه اروپا ممنوع اعلام شده است. پس از ممنوع اعلام شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تعداد زیادی از کشورهای جهان، علاقه زیادی به دنبال جایگزین برای این ترکیبات به‌وجود آمد (Anadón *et al.*, 2012). نمک های معدنی و همچنین پری‌بیوتیک ها را از جایگزین‌های این ترکیبات می‌توان نام برد که از راه افزایش مصرف خوراک و یا فعالیت ضد میکروبی خود به‌عنوان محرک رشد عمل می‌کنند (Iqbal and Malik, 2012). روی، نقره، جیوه، آرسنیک و مس از مواد ضد میکروبی قوی به حساب می‌آیند. در این میان عنصر مس از لحاظ زیست‌محیطی و ویژگی ضد قارچی، ضد باکتریایی و حتی ضد ویروسی اهمیت زیاد و حیاتی دارد (Li *et al.*, 2010). آنزیم‌هایی چون سرولوپلاسمین، سیتوکروم سی اکسیداز، مس-روی

۱، ۲ و۳- به‌ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۴ و ۵- به‌ترتیب دانشجوی دکتری تغذیه دام و استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: vahediv@uma.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.2022.68668.1006

سوپراکسید دیسموتاز و چندین آنزیم دیگر در بافت‌های پستانداران به مس وابسته هستند (Underwood and Suttle, 1999). نقش مس در فعالیت این آنزیم‌ها سبب گردیده است که این عنصر در عملکرد فیزیولوژیکی دام نظیر خون سازی، سلامت سیستم ایمنی، محافظت در برابر اکسیدان ها و عملکرد های دیگر، نقش مهمی داشته باشد.کمبود مس در برخی نواحی جهان یک مشکل عمده در نشخوارکنندگان محسوب می‌شود (Solaiman *et al.*, 2006). غلظت پیشنهادی مس در گوساله‌ها توسط NRC (National Research Council, 2000) ۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک و ARC (Aquaculture Research Council, 1980) ۱۴–۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک می‌باشد. مقدار مس مورد نیاز در جیره، با توجه به امکان حضور مواد دخیل در جذب مس متفاوت است. جذب مس در گوساله در اوایل زندگی بیش از ۷۰ درصد بوده، امّا با توسعه شکمبه جذب کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که با بالغ شدن دام میزان جذب آن به یک الی پنج درصد از مس جیره می‌رسد (National Research Council, 2001). فیتات، کلسیم، گوگرد، آهن روی یا مولیبدین میزان جذب مس را کاهش داده، امّا عوامل کیلات‌کننده مانند آمینو اسید، سیترات یا فرم غیرمعدنی، میزان جذب را افزایش می‌دهند (McDowell, 2003). همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد، فرم‌های مختلف مس سطح جذب متفاوتی داشته است (Suttle, 2010). در این شرایط، به‌کارگیری یک منبع مناسب یا فرمی از ماده معدنی که زیست فراهمی بالایی داشته باشد، یک روش مفید برای کاهش مصرف مواد معدنی کمیاب در جیره از طریق افزایش زیست فراهمی آن‌ها می‌باشد (Creech *et al.*, 2004). گزارشاتی وجود دارد که استفاده از فرم آلی و یا مس به‌فرم نانو در مقایسه با سولفات مس، زیست فراهمی بیشتری دارد (Gonzales-Eguia *et al.*, 2009). کاهش دادن اندازه ذرات در حد نانو و افزایش نسبت سطح به حجم در فرآورده‌های نانو، سبب افزایش سطح تماس ذرات نانو با بیومولکول ها شده و علاوه‌براین باعث می‌شوند تا فعل و انفعالات شیمیایی این مواد با مولکول‌های آلی و معدنی در بدن به‌طور متفاوتی انجام پذیرد (Francisco *et al.*, 2008).

در سال‌های اخیر، علاقه بسیاری به افزایش جذب مواد معدنی از راه مصرف الیگوساکاریدها به‌وجود آمده است. گزارش‌ها نشان می‌دهد که الیگوساکاریدها از راه کاهش pH، جذب روده‌ای برخی مواد معدنی از جمله کلسیم، منیزیم، آهن و مس را افزایش داده اند (Monchios *et al.*, 1999). این ترکیبات می‌تواند از راه افزایش ارتفاع، یکنواختی و یکپارچگی پرزهای روده، جذب مواد مغذی و عملکرد رشد را بهبود بخشند. پری‌بیوتیک‌ها مواد غیر قابل هضمی هستند که از طریق رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از گونه‌های باکتریایی که هدف آن‌ها بهبود سلامتی میزبان است، به‌طور مؤثری بر ارتقای سلامتی دام و طیور تأثیر می‌گذارد (Deka, 2009). پری‌بیوتیک‌ها شامل کربوهیدارت‌هایی از جمله نشاسته مقاوم به هضم شکمبه‌ای، فیبر (پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای مانند سلولز، همی سلولز و پکتین)، الیگو ساکاریدها از قبیل اینولین، الیگو ساکارید فروکتوز و الیگو ساکارید مانان هستند (Patterson and Burkholder, 2003).

در سال‌های اخیر، سطح مصرف عناصر معدنی کم نیاز در پژوهش‌های مختلف نسبت به توصیه NRC (2001) متفاوت بوده که بر نتایج پژوهش‌ها اثرگذار بوده است (Formigoni *et al.*, 2011). لذا، تحقیق حاضر به بررسی سطوح بالاتر مس در جیره گوساله‌های شیرخوار پرداخته و از طرفی دیگر، با استفاده همزمان مس و پری‌بیوتک فرض شد با جذب بیشتر مکمل مس و سایر مواد مغذی، عملکرد رشد دام بهبود یابد. بنابراین، با توجه به موارد ذکر شده، مطالعه‌ای با هدف بررسی اثرات نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد و شمارش سلول‌های خونی در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین طراحی و انجام گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مجتمع دامپروری شرکت کشت و صنعت مغان واقع در استان اردبیل، شهرستان پارس‌آباد صورت پذیرفت. بدین منظور از ۲۸ رأس گوساله هلشتاین تازه متولد شده با میانگین سنی ۸–۱ روز و میانگین وزنی ۱±۳۹ کیلوگرم با چهار تیمار و هفت تکرار به‌طور کاملاً تصادفی در قالب طرح فاکتوریل (۲×۲) استفاده گردید. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره پایه بدون افزودنی، ۲) جیره پایه به همراه چهار گرم پری‌بیوتیک در روز، ۳) جیره پایه به همراه ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک نانو اکسید مس، ۴) جیره پایه + ۴ گرم پری‌بیوتیک + ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک نانو اکسید مس بودند. پری‌بیوتیک مورد استفاده در این مطالعه، سلماناکس ساخت شرکت (VI-COR) آمریکا (Arm and Hammer Animal Nutrition) بوده که توسط شرکت پیشتازان توزیع می‌شود. سلماناکس (Celmanax) یک پری‌بیوتیک حاوی سه محصول مخمر هیدرولیز شده، عصاره مخمر و محیط کشت ساکارومایسیس سرویسیه بوده که یک فرآورده طبیعی حاوی بتاگلوکان، مانان الیگوساکارید، پروتئین، اسیدهای آمینه، مواد معدنی و ویتامین‌های گروه B می‌باشد. همچنین نانو اکسید مس (درجه خلوص نانو اکسید مس ۹۹/۹ در صد و جرم مولکولی ۷۹/۵۴ گرم در مول) استفاده شده در این طرح ساخت شرکت آمریکایی -US Research- بود. گوساله‌ها در ۲۴ ساعت اول پس از تولد، از مادران خود جدا شده و ضدعفونی ناف با محلول تنتورید انجام گرفت و پس از وزن‌کشی به باکس‌های انفرادی منتقل شدند. سپس با چهار لیتر آغوز در دو نوبت و در هشت ساعت اولیه تولد تغذیه شدند. دادن آغوز برای دو روز دیگر بر مبنای ۱۰ درصد وزن بدن ادامه یافت. شیردهی به گوساله‌ها روزانه در دو نوبت (ساعت

۸ صبح و ساعت ۱۸) انجام شد. در روز چهارم تولد، گوساله‌ها به باکس های انفرادی بتونی به اندازه ۲×۱ متر در محل گوساله‌دانی انتقال داده شدند. استارتر از روز چهارم پس از تولد به صورت آزاد در اختیار گوساله قرار گرفت. آب آشامیدنی نیز همراه با استارتر از روز چهارم تولد به‌صورت مصرف آزاد در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مقدار ۱۰ درصد یونجه خشک از روز ۲۰ پس از تولد به صورت خرد شده در اندازه قطعات ۱-۲ سانتی‌متر به جیره‌ی استارتر گوساله‌ها اضافه شد. جیره‌های آزمایشی و ترکیب شیمیایی آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

در طول ۵۰ روز دوره آزمایشی، جیره‌های غذایی پس از توزین روزانه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. برای تعیین میزان مصرف خوراک، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقی‌مانده خوراک روز قبل جمع‌آوری و ثبت شدند. گوساله‌ها هر دو هفته یک بار با اعمال محرومیت قبلی ۱۴-۱۲ ساعت از آب و خوراک جهت جلوگیری تغییرات وزن، وزن‌کشی شدند (Ramezani *et al.*, 2018).

جهت تعیین سلول‌های خونی (گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت، مونسیت و نوتروفیل) از سیاهرگ وداج گوساله‌ها خون‌گیری به عمل آمده و در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد اتیلن‌دی‌آمین‌تترا استیک اسید[1] ریخته شد. تعیین سلول‌های خونی از طریق رنگ‌آمیزی و تفریق سلولی و شمارش چشمی زیر میکروسکوپ نوری انجام گردید.

پس از جمع‌آوری داده ها، تجزیه تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ و رویه Mixed انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSMEANS صورت گرفت و سطح احتمال پنج درصد به‌عنوان سطح معنی‌داری منظور گردید. معادله مدل آماری مورد استفاده $Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB_{ij}) + e_{ijk}$ بود که در آن، Y_{ijk}: متغیر وابسته، μ : میانگین هر یک از مشاهدات، A_i: اثر فاکتور اول (پری‌بیوتیک صفر و چهار گرم)، B_j: اثر فاکتور دوم (نانو اکسید مس در دو سطح صفر و ۱۵ میلی‌گرم)، (AB_{ij}): اثر متقابل بین فاکتورهای اول و دوم و e_{ij}: اثر اشتباه آزمایش است.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به اثرات استفاده از نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر عملکرد رشدی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۲ نشان داده شده است. عامل نانو اکسید مس و اثر متقابل نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک وزن نهایی گوساله‌های شیرخوار را تحت تأثیر قرار نداد. (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد که میزان مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی گوساله های شیرخوار در اثر مکمل کردن عامل پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس در جیره، تحت تأثیر قرار نگرفت. مسلمی‌پور و همکاران (Moslemipur *et al.*, 2014) گزارش کردند افزودن پری‌بیوتیک به شیر و آغوز باعث بهبود ضریب تبدیل نسبت به گروه شاهد و گروه سین‌بیوتیک شده است. در پژوهشی، استفاده از الیگو ساکارید مانان در گوساله‌های شیرخوار سبب تحریک مصرف خوراک آغازین شد (Swanson *et al.*, 2002). گاش و مهلا (Ghosh and Mehla, 2012) گزارش کردند که استفاده از چهار گرم مانان الیگوساکارید در گوساله‌های شیرخوار سبب بهبود مصرف خوراک و افزایش وزن روزانه می‌شود. در آزمایش‌های دیگر گزارش شده است که گوساله‌های که با پری‌بیوتیک مانان الیگوساکارید و بتاگلوکان تغذیه شده بودند، افزایش وزن بیشتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند (Ley *et al.*, 2006). رودپشتی و دبیری (Roodposhti and Dabiri, 2012) با بررسی اثرات اولیگوساکاریدهای مانان در جیره گوساله‌های شیرخوار نشان دادند که مصرف خوراک در مقایسه با گروه دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک و شاهد بیشتر است، امّا تأثیری بر وزن نهایی بدن ندارد. در پژوهشی اثر معنی‌داری در افزایش وزن روزانه گوساله‌های دریافت‌کننده مانان الیگو ساکاریدها مشاهده نشد (Heinrichs *et al.*, 2003).

امّا در مقابل، دن و همکاران (Dann *et al.*, 2000) و بالو (Ballou, 2011) در گزارشی نشان دادند که استفاده از پری بیوتیک در جیره گوساله‌های شیرخوار اثر معنی‌داری بر عملکرد رشد و مصرف خوراک ندارد که مشابه با نتایج این تحقیق می‌باشد. توسعه انواع ریز جانداران شکمبه (نظیر باکتری های هوازی و غیر هوازی) در زمان‌های مختلف پس از تولد روی می‌دهد، امّا از حدود هفته دوم پس از تولد، کلنی جمعیت میکروبی با توسعه قابل قبولی مشاهده می شود. احتمالاً از دلایل عدم اثرگذاری پری‌بیوتیک بر عملکرد رشد در این مطالعه تخمیر جزئی پری‌بیوتیک در شکمبه و سطوح ناکافی از پری بیوتیک تغذیه شده باشد (Azami *et al.*, 2017).

1- EDTA

جدول ۱- جیره پایه و ترکیب شیمیایی جیره

Table1- Basal diet and chemical composition of diet+

اقلام خوراکی Feed ingredients	ماده خشک (٪) Dry matter (%)	ترکیبات شیمیایی Chemical composition	ماده خشک (٪) Dry matter (%)
ذرت Corn	40.5	ماده خشک (درصدی از ماده خشک) Dry matter (%DM)	90.7
جو Barley	14.0	پروتئین خام (درصدی از ماده خشک) Crude protein (%DM)	19.8
سبوس گندم Wheat bran	4.0	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصدی از ماده خشک) ADF (%DM)	15.7
کنجاله سویا Soybean meal	38.6	الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصدی از ماده خشک) NDF (%DM)	29.4
نمک Salt	0.4	عصاره اتری (درصدی از ماده خشک) EE (%DM)	2.2
پودر صدف Shelf powder	1.0	کلسیم (درصدی از ماده خشک) Calcium (%DM)	0.94
مخلوط معدنی[۱] Mineral premix[1]	0.5	فسفر (درصدی از ماده خشک) Phosphor (%DM)	0.78
مخلوط ویتامینه[۲] Vitamin premix[2]	0.5	مس (میلی‌گرم در کیلوگرم) Copper (mg/kg)	20.0
سدیم بی‌کربنات Sodium bicarbonate	0.5	آهن (میلی‌گرم در کیلوگرم) Iron (mg/kg)	398.0

[۱]مکمل‌های معدنی: کلسیم ۱۹۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ فسفر ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ منیزیم ۹۰۰۰۰ میلی‌گرم؛ سدیم ۵۵۰۰۰ میلی‌گرم؛ روی ۳۰۰۰ میلی‌گرم؛ آهن ۳۰۰ میلی‌گرم؛ منگنز ۲۰۰۰ میلی‌گرم؛ کبالت ۱۰۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۱ میلی‌گرم؛ آنتی‌اکسیدان ۴۰۰ میلی‌گرم.

[۲]مکمل ویتامین: ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم؛ ویتامین E، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ ویتامین D3 ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی در کیلوگرم.

[1]Mineral supplements: Calcium 195,000 mg; Phosphorus 90,000 mg; Magnesium 90,000 mg ؛Sodium 55000 mg; Zinc 3000 mg Iron 300 mg; Manganese 2000 mg; Cobalt 100 mg; Selenium 1 mg; Antioxidant 400 mg.

[2]Vitamin supplement: Vitamin A, 500,000 IU/ kg; Vitamin E, 100 mg/ kg; Vitamin D3 100,000 IU/ kg.

در رابطه با استفاده از مس در دام گزارش شده است که افزودن مکمل های آلی و معدنی مس تأثیری بر عملکرد رشد بره ها (Chashnidel *et al.*, 2019 Aliarabi *et al.*, 2011;) و بزغاله‌های از شیر گرفته شده (Zhang *et al.*, 2008) ندارد. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2008) با افزودن ۲۰ میلی‌گرم سولفات مس در کیلوگرم ماده خشک اثر مثبتی را در افزایش وزن روزانه بزها مشاهده کرد. گارسیا دیاز و همکاران (Garcia-Diaz *et al.*, 2017) گزارش کردند که استفاده از مس (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک) در گوساله‌های پرواری سبب بهبود عملکرد رشد گردید. در مقابل، گزارشاتی وجود دارد نشان می‌دهد که استفاده از ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منابع آلی مس به جیره پایه حاوی مقادیر کافی روی در برهها تغییری در افزایش وزن روزانه ایجاد نکرد (Aliarabi *et al.*, 2011). ماتولی و همکاران (Mattioli *et al.*, 2018) با بررسی اثرات مس در گوساله‌های شیرخوار نشان دادند که تزریق مس نتوانست اثری بر وزن بدن گوساله‌ها داشته باشد. همچنین بهاری و همکاران (Bahari, 2012) در بره‌ها، لوگین بول و همکاران (Luginbuhl *et al.*, 2000) در بزغاله‌های از شیر گرفته شده نشان دادند که استفاده از مس آلی و معدنی نتوانست تأثیری بر عملکرد رشد داشته باشد. با بررسی نتایج مطالعات متعدد نشان داده شده است که در صورت تأمین بودن نیاز دام، مکمل نمودن جیره با مس اضافی تأثیر چندانی بر عملکرد رشد نداشته و ممکن است استفاده بیش از حد نیز سبب اثرات منفی بر نیاز سایر مواد معدنی نظیر روی داشته باشد.

جدول ۲- اثرات پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس بر عملکرد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 2- Effects of prebiotics and copper nano oxide on performance of Holstein calves

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				میانگین خطای استاندارد	اثرات معنی‌داری *P value*		
	شاهد Control	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC & NCU	SEM	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC×NCU
وزن بدن (کیلوگرم) Body weight (kg)								
وزن تولد Birth weight	35.16	36.33	36.66	36.83	1.36	0.47	0.63	0.71
وزن پایان دوره End of period weight	64.66	67.50	67.66	67.98	1.30	0.41	0.48	0.15
مصرف خوراک (گرم در روز) Feed intake (g/d)								
۱ -۱۵ روزگی 1-15 d	621.2	616.1	619.9	62.6	14.61	0.91	0.84	0.88
۱۶ -۳۰ روزگی 16-30 d	940.1	929.0	950.9	948.3	47.07	0.75	0.88	0.92
۳۱ -۴۵ روزگی 31-45 d	1288.8	1197.7	1267.3	1298.4	56.85	0.49	0.60	0.29
۱- ۵۰ روزگی 1-50 d	1110.4	1112.5	1095.6	1176.1	59.91	0.64	0.43	0.45
افزایش وزن روزانه (گرم در روز) Daily weight gain (g/d)								
۱-۱۵ روزگی 1-15 d	273.80	267.75	238.10	250.00	22.14	0.24	0.89	0.69
۱۶ -۳۰ روزگی 16-30 d	455.55	483.31	422.21	477.78	54.38	0.72	0.45	0.80
۳۱ -۴۵ روزگی 31-45 d	688.91	733.35	722.23	721.22	53.40	0.83	0.68	0.68
۱- ۵۰ روزگی 1-50 d	583.33	623.32	626.65	596.66	25.28	0.74	0.84	0.18
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio								
۱ -۱۵ روزگی 1-15 d	2.35	2.33	2.77	2.58	0.24	0.18	0.68	0.71
۱۶ -۳۰ روزگی 16-30 d	2.17	2.30	2.48	2.01	0.36	0.98	0.65	0.41
۳۱ -۴۵ روزگی 31-45 d	1.94	1.68	1.78	1.80	0.13	0.90	0.38	0.31
۱- ۵۰ روزگی 1-50 d	1.92	1.79	1.76	1.96	0.09	0.96	0.73	0.10

Control: شاهد، PBC: پری‌بیوتک، NCU: نانو اکسید مس

عملکرد رشد استخوانی

نتایج مربوط به اثرات استفاده از پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس بر رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۳ نمایش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می شود مکمل کردن نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک در جیره گو ساله‌های شیرخوار نتوانست اثر معنی‌داری بر طول بدن، دور سینه و ارتفاع از جدوگاه در کل دوره پرورشی داشته با شد. هنریخ و همکاران (Heinrichs *et al.*, 2003) نشان دادند که افزودن مانان الیگوساکاریدها در جیره گوساله‌های شیرخوار تأثیر معنی‌داری روی پارامترهای دور سینه، قد، طول و عرض لگن ندا شته ا ست. بهاری (Bahari, 2012) با برر سی اثرات پری‌بیوتیک در جیره

برەها نشان داد که استفاده از پری‌بیوتیک نتوانست اثری بر طول بدن، ارتفاع از جدوگاه، عمق قفسه سینه، طول کپل و عرض کپل داشته باشد. در مطالعه‌ای، عظیم زاده و همکاران (Azimzadeh *et al.*, 2016) گزارش کردند که استفاده از سینبیوتیک در جیره گوساله‌ها اثر معنی‌داری بر رشد اسکلتی نداشت. همچنین اعظمی و همکاران (Azami *et al*, 2017) نشان دادند، مکمل کردن جیره گو ساله‌های شیرخوار با پری‌بیوتیک اینولین نتوانست تأثیری بر طول بدن، ارتفاع از جدوگاه و دور سینه داشته باشد که موافق با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. در تحقیق دیگری، استفاده از پری‌بیوتیک تجاری در جایگزین شیر گوساله‌های شیرخوار اختلاف معنی‌داری را در ارتفاع هیپ، ارتفاع جدوگاه و محیط سینه در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد (Quezada-Mendoza *et al.*, 2011). دیدارخواه و وطن دوست (Didarkhah and Vatandoost, 2012) با بررسی اثرات پری‌بیوتیک و پروبیوتیک بر رشد اسکلتی برەها نشان دادند که استفاده از پری‌بیوتیک سبب افزایش دور سینه شد، در حالی‌که تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع از جدوگاه، طول بدن و فاصله بین هیپ و پین ایجاد نکرد. انتظار می‌رفت، مصرف پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس با کاهش تنش‌های نا شی از شیرگیری و ا ستقرار جمعیت میکروبی منا سب در روده به کاهش بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامت و عملکرد رشد گوساله تأثیر مثبتی بگذارد، امّا با توجه به کم تأثیر بودن پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس بر عملکرد رشد، مشابه بودن رشد اسکلتی در گروەهای مختلف قابل پیش‌بینی به نظر می‌رسد.

جدول ۳- اثرات پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس بر رشد اسکلتی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 3- Effects of prebiotics and copper nanoxide on growth skeleton of Holstein calves

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				میانگین خطای استاندارد	اثرات معنی‌داری *P value*		
	شاهد Control	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC & NCU	SEM	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC×NCU
گلبول سفید (هزار در میکرولیتر) White blood cell (1000/µl)								
گلبول قرمز (میلیون در میکرولیتر) Red Blood Cell (1000000/µl)	87.60	85.40	88.20	85.00	0.88	0.94	0.41	0.12
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) Hemoglobin (g/dl)	94.66	93.16	93.17	93.14	1.32	0.10	0.11	0.10
هماتوکریت (درصد) Hematocrit (%)								
حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون (فمتولیتر) Mean corpuscular volume (fl)	65.20	64.80	63.20	63.60	0.42	0.31	0.65	0.77
متوسط هموگلوبین گلبول (پیکوگرم) Mean corpuscular hemoglobin (pg)	78.16	76.83	75.66	74.66	1.36	0.40	0.10	0.90
نوتروفیل (هزار در میکرولیتر) Neutrophil (1000/µl)								
لنفوسیت (هزار در میکرولیتر) Lymphocyte (1000/µl)	80.20	77.40	79.80	79.20	0.71	0.65	0.78	0.88
گلبول سفید (هزار در میکرولیتر) White blood cell (1000/µl)	92.50	89.00	89.16	90.83	2.03	0.65	0.71	0.21

Control: شاهد، PBC: پری‌بیوتک، NCU: نانو اکسید مس

شمارش سلول‌های خونی

نتایج مربوط به اثرات نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر شمارش سلول‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، عامل پری‌بیوتیک، نانو اکسید مس و عامل متقابل پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس نتوا ست اثر معنی‌داری بر درصد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، لنفوسیت، هموگلوبین و هماتوکرین دا شته با شد. امّا در مقابل، عامل نانو اک سید مس و پری‌بیوتیک در صد نوتروفیل را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند (P<۰/۰۵). همچنین میزان لنفو سیت تو سط عامل پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس تمایل به معنی‌داری بود. در گوساله‌ها، در روزهای بعد از تولد، در صد نوتروفیل بیشتر از لنفو سیت‌ها ا ست و گو ساله‌های تازه متولد شده حیات خود را با لنفوسیت کمتر نسبت به نوتروفیل آغاز می‌کنند، امّا از هفته دوم بعد از تولد، تعداد لنفوسیت‌ها افزایش می‌یابد، به‌طوری‌که نسبت بین نوتروفیل و لنفوسیت در گوساله به ۰/۵

می‌رسد. هرچند با افزایش سن، مقادیر لنفوسیت و نوتروفیل کمتر می شود، ولی همچنان در صد لنفو سیت‌ها از نوتروفیل بیشتر می‌با شد (Schalm *et al.*, 1975). هژبری و همکاران (Hozhabri *et al.*, 2018) گزارش کردند که نسبت نوتروفیل و لنفوسیت تحت تأثیر مکمل نانو اکسید مس قرار دارد. همچنین در این آزمایش نانو اکسید مس درصد هماتوکریت را نتوانست به‌طور معنی‌داری تغییر دهد. در مطالعه‌ای گزارش کردند که استفاده از مکمل آلی و معدنی مس بر درصد هماتوکریت تأثیری نداشت (Chashnidel *et al.*, 2019). دزفولیان و همکاران (Dezfoulian *et al.*, 2012) با بررسی پروتئینات مس و سولفات مس در گو سفندان نشان دادند که اختلاف معنی‌داری در میزان هماتوکریت و هموگلوبین مشاهده نشد. این محققین بیان کردند که با افزایش سطح مس از ۱۰ به ۲۰ (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)، میزان هماتوکریت و هموگلوبین تمایل به افزایش دا شت. گزارش شده ا ست که مسمومیت با مس موجب کم خونی همولیتیک و کاهش مقادیر فرا سنجه‌هایی همچون هماتوکریت، گلبول‌های قرمز و هموگلوبین می‌شود (Egbe-Nwiyi *et al.*, 2000). هژبری و همکاران (Hozhabri *et al.*, 2018) گزارش کردند که استفاده از نانو اکسید مس و لیزین-مس در بره‌های نر سنجابی سبب کاهش میزان نوترفیل نسبت به دو گروه شاهد و لیزین- مس می‌شود. همچنین این محققین اظهار داشتند که میزان لنفوسیت با استفاده از نانو اکسید مس به کمترین مقدار در مقایسه با گروه شاهد رسید که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. گزارش شده است که استفاده از چهار گرم مانان الیگوساکارید تأثیر معنی‌داری را بر مقدار لکو سیت‌های گو ساله‌ها ایجاد نکرد، امّا میزان هموگلوبین را نسبت به گروه شاهد افزایش داد (Masanetz, 2011). دار و همکاران (Dar *et al.*, 2017) با بررسی اثرات یک گرم پروبیوتیک (لاکتوبا سیلوس اسیدوفیلوس)، ۴ گرم پری‌بیوتیک (مانان الیگوساکارید) و ۲/۵ گرم سین‌بیوتیک (۰/۵ گرم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+ ۲ گرم مانان الیگو ساکارید) در گو ساله‌ها نشان دادند که استفاده از این افزودنی‌ها سبب افزایش هموگلوبین نسبت به گروه شاهد می شود. در گزارش دیگری عبدالفتاح و فرار (Abdel-Fattah and Fararh, 2009) نشان دادند که استفاده از یک گرم پری‌بیوتیک (زیست‌توده) و ۰/۵ گرم پروبیوتیک (لاتیک درای) سبب افزایش میزان هموگلوبین می‌شود. رودپشتی و دبیری (Roodposhti and Dabiri, 2012) گزارش کردند که استفاده از یک گرم پری‌بیوتیک (پلی ساکاریدهای دیواره سولی ساکارومایسس سرویسیه) در گوساله‌های شیرخوار اثر معنی‌داری بر مقدار لنفوسیت، مونوسیت و نوتروفیل ایجاد نکرد. در آزمایش دیگر گزارش شد که میزان لنفو سیت‌ها، لوکو سیت و نوتروفیل‌ها با مکمل کردن سینبیوتیک (ترکیب فروکتوالیگوساکارید و لاکتوباسیلوس) تمایل به افزایش از خود نشان می‌دهند (Heinrichs *et al.*, 2003).

جدول ٤– اثرات پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس بر شمارش سلول‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

Table 4- Effects of prebiotics and copper nanoxide on blood cell count of Holstein calves

	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments				میانگین خطای استاندارد	اثرات معنی‌داری *P value*		
	شاهد Control	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC & NCU	SEM	پری‌بیوتیک PBC	نانو اکسید مس NCU	پری‌بیوتیک× نانو اکسید مس PBC×NCU
گلبول سفید White blood cell (1000/µl)	8.32	8.48	9.51	10.36	1.79	0.68	0.21	0.74
گلبول قرمز Red Blood Cell (1000000/µl)	6.58	6.25	6.27	6.19	0.76	0.33	0.32	0.32
هموگلوبین Hemoglobin (g/dl)	8.40	8.19	7.62	8.00	0.81	0.90	0.21	0.32
هماتوکریت Hematocrit (%)	28.12	26.68	25.26	26.36	2.88	0.87	0.25	0.28
حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون Mean corpuscular volume (fl)	42.11	42.6	40.5	42.5	4.39	0.49	0.61	0.68
متوسط هموگلوبین گلبول Mean corpuscular hemoglobin (pg)	13.00	13.28	12.3	13.00	1.18	0.36	0.34	0.32
نوتروفیل Neutrophil (1000/µl)	0.50	0.53	0.47	0.60	0.04	0.09	0.66	0.01
لنفوسیت Lymphocyte (1000/µl)	0.62	0.65	0.58	0.62	0.04	0.54	0.37	0.09

Control: شاهد، PBC: پری‌بیوتک، NCU: نانو اکسید مس

نتیجه‌گیری کلی

با برر سی اثرات نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک بر عملکرد ر شد و شـــمارش سـلول‌های خونی نتیجه‌گیری می‌شـود که اسـتفاده از نانو اکسید مس و پری‌بیوتیک نتوانست سبب بهبود عملکرد رشد (مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه، ضـریب تبدیل غذایی) و رشـد اسـکلتی (دوره سـینه، ارتفاع از جدوگاه و طول بدن) گوسـالـه‌های شـیرخوار هلشـتاین شـود. همچنین عامل نانو اکسـید مس و پری‌بیوتیک و اثر متقابل آن‌ها تأثیری معنی‌داری بر گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و لنفوسـیت ایجاد نکرد. در حالی‌که عامل پری‌بیوتیک و نانو اکسید مس سبب افزایش میزان نوتروفیل در گوساله‌های شیرخوار شد.

References

1. Azami, M. H., Tahmasbi, A. M., Valikhani, A., & Naserian, A. A. (2017). Evaluation of performance, blood parameters and microbial population of feces in suckling Holstein calves fed with supplemented milk by inulin prebiotic. *Journal of Ruminant Research*, 5, 111-130. (In Persian). DOI: 10.22069/ejrr.2017.12284.1505.
2. Abdel-Fattah, F. A., & Fararh, K. M. (2009). Effect of dietary supplementation of probiotic, prebiotic and synbiotic on performance, carcass characteristics, blood picture and some biochemical parameters in broiler chickens. *Benha Veterinary Medical Journal*, *20*, 9-23.
3. Aliarabi, H., Tabatabaee, M. M., Fadayifar, A., Torkashvan, S., Bahari, A. A., Zamani, P., Alipour, D., & Dezfoulian, A. H. (2011). The effect of addition of organic zinc supplementation with and or without Cu on performance plasma minerals profile and some enzyme activity in male Mehraban lambs. *Journal of Animal Science Researches*, *21*, 111-121. (In Persian)
4. Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., & Castellano, V. (2012). Regulatory aspects for the drugs and chemicals used in food-producing animals in the European Union. *In Veterinary Toxicology*: *Basic and Clinical Principles*, (Second Edition), 135-155. DOI:10.1016/B978-0-12-385926-6.00010-7.
5. Aquaculture Research Council. 1980. The nutrient requirements of ruminant livestock. Agricultural Research Council Commonwealth Agricultural Bureau, CAB International Slough.
6. Azimzadeh, V., Asadi Alamoti, A., Khadem, A. A., Bagheri Varzaneh, M., & Moradi, J. M. (2016). Effects of supplementation of a symbiotic product on growth performance and health of Holstein calves. *Research on Animal Production*, *12*, 105-114. (In Persian)
7. Bahari, A. (2012). The effect of level and kind of Cu supplementation on hematology parameters, ceruloplasmin and plasma concentration of Cu, Zn and Fe in male Mehraban lambs. *Iranian Journal of Animal Science*, *43*, 161-174. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijas.2012.28525.
8. Ballou, M. A. (2011). Case study: Effects of a blend of prebiotics, probiotics, and hyperimmune dried egg protein on the performance, health, and innate immune responses of Holstein calves. *The Professional Animal Scientist*, *27*, 262-268.
9. Chashnidel, Y., Bahari, M., Teimouri Yansari, A., & Kazemifard, M. (2019). The effects of different levels of prebiotic and peptide supplementations on growth performance, apparent digestibility nutrients and fecal score in suckling Zell lambs. *Research on Animal Production*, *10*, 53-64. (In Persian). https://doi.org/10.29252/rap.10.23.53.
10. Creech, B. L., Spears, J. W., Flowers, W. L., Hill, G. M., Lloyd, K. E., Armstrong, T. A., & Engle, T. E. (2004). Effect of dietary trace mineral concentration and source (inorganic vs. chelated) on performance, mineral status, and fecal mineral excretion in pigs from weaning through finishing. *Journal of Animal Science*, *82*, 2140-2147. https://doi.org/10.2527/2004.8272140x.
11. Dann, H., Drackley, J., McCoy, G., Hutjens, M., & Garrett, J. (2000). Effects of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, *83*, 123–127. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74863-6.
12. Dar, A., Singh, S. K., Palod, J., Al Ain, K., Kumar, N., Khadda, B., & Farooq, F. (2017). Effect of probiotic, prebiotic and synbiotic on hematological parameters of crossbred calves. *International Journal of Livestock Research*, *7*(4), 127-136. https://doi.org/10.5455/ijlr.20170312053224.
13. Deka, R. S. (2009). Effect of probiotic Biobloom as growth promoter in kids. *Indian Veterinary*, *86*(11), 1192-1193.
14. Dezfoulian, A. H., Aliarabi, H., Tabatabaei, M. M., Zamani, P., Alipour, D., Bahari, A., & Fadayifar, A. (2012). Influence of different levels and sources of copper supplementation on performance, some blood parameters, nutrient digestibility and mineral balance in lambs. *Livestock Science*, *147*, 9-19. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.03.011.
15. Didarkhah, M., & Vatandoost, M. (2012). The effect of probiotic and prebiotic supplements on growth performance, blood parameters and skeletal growth of Baluchi male lambs. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *12*(4), 411-422. (In Persian). DOI:10.22067/ijasr.v12i4.75166.
16. Egbe-Nwiyi, T. N., Nwaosu, S. C., & Salami, H. A. (2000). Haematological values of apparently healthy sheep and goats as influenced by age and sex in arid zone of Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*, *3*, 109–115.
17. Formigoni, A., Fustini, M., Archetti, L., Emanuele, S., Charles Sniffen, C., & Biagia, G. (2011). Effects of an

organic source of copper, manganese and zinc on dairy cattle productive performance, health status and fertility. *Animal Feed Science and Technology*, *164*,191–198. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.01.010.

18. Francisco, H. S., Facundo, R. J., Diana, C. C. P., Fideal, M. G., Alberto, E. M., Amaury, D. J. P. G., Humberto, T. P., & Gabriel,. M. C. (2008). The antimicrobial sensitivity of stereptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide and gold. *Nanomedicine Nanotechnology Biology and Medicine*, *4*, 237-240. https://doi.org/10.1016/j.nano.2008.04.005.
19. Garcia-Diaz J., Noval-Artiles, E., Perez-Bello, A., Hernández-Barreto, M., Perez-Gonzalez, Y. (2017). Effects of copper parenteral supplementation on the weight gain in fattening bulls. *Revista MVZ Córdoba*, *22*(2), 5821-5828.
20. Ghosh, S., & Mehla, R. K. (2012). Influence of dietary supplementation of prebiotics (mannanoligosaccharide) on the performance of crossbred calves. *Tropical Animal Health and Production*, *44*, 617-622. https://doi.org/10.1007/s11250-011-9944-8.
21. Gonzales-Eguia, A., Chao-Ming, F., Fu-Yin, L., & Tu-Fa, L. (2009). Effects of nano-copper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. *Journal of Livestock Science*, *126*, 122-129. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.06.009.
22. Heinrichs, A. J., Jones, M., & Heinrichs, B. S. (2003). Effects of mannan-oligosaccharide or antibiotic in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, *86*, 4064-4069. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74018-1.
23. Hozhabri, F., M. Darabi, & M. M. Moeini. 2018. Assessing the various copper supplements effect on performance, some blood parameters and humoral immune response of male Sanjabi lambs. *Journal of Ruminant Research*, *6*, 101-116. (In Persian). DOI:10.22069/ejrr.2018.14682.1620.
24. Iqbal, R., & Malik, F. (2012). The study of histopathological changes upon exposure to vinegerized copper sulphate in liver and kidney of broiler chick. *Middle East Journal of Scientific Research*, *12*(1), 36-41.
25. Ley, R. E., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2006). Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *124*, 837-848. https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.017.
26. Li, B., Hwang, J. Y., Drelich, J., Popko, D., & Bagley, S. 2010. Physical, chemical and antimicrobial characterization of copper-bearing material. *Journal of the Minerals, Metals and Materials Society*, *62*, 80-85. https://doi.org/10.1007/s11837-010-0187-3.
27. Luginbuhl, J. M., Poore, M. H., Spears, J. W., & Brown, T. T. (2000). Effect of dietary copper level on performance and copper status of growing meat goats. *Sheep and Goat Research Journal*, *16*, 65-71.
28. Masanetz, S. (2011). Impact of prebiotic substances on gut health of livestock animals: Inulin, lactulose and Pinus massoniana pollen (Doctoral dissertation, München, Techn. Univ., Diss., 2011).
29. Mattioli, G. A., Diana, E. R., Turic, E., Enrique, A., Galarza, E., & Emilio, L. (2018). Effects of copper and zinc supplementation on weight gain and hematological parameters in pre-weaning calves. *Biological Trace Element Research*, *185*, 327–331. https://doi.org/10.1007/s12011-017-1239-0.
30. McDowell, L. R. (2003). Minerals in Animal and Human Nutrition, Second Edition. Elsevier, Amsterdam
31. Monchios, V., Willemot, R. L., & Monsan, P. (1999). Glucansucrases: Mechanism of action and structure-function relationships. *FEMS Microbiology Reviews. Apr;* *23*(2), 131-51. https://doi.org/10.1111/j.1574 6976.1999.tb00394.x.
32. Moslemipur, F., Moslemipur, F., & Mostafalo, Y. (2014). Effects of using probiotic and synbiotic in colostrum and milk on passive immunoglobulin transfer rate, growth and health parameters of calf. *Journal of Ruminant Research*, *4*, 19-30. (In Persian).
33. National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle.Natl.Acad. Sci Washington DC.
34. National Research Council. (2000). Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
35. Patterson J. A., & Burkholder, K. M. (2003). Prebiotic feed additives: Rationale and use in pigs. *Proceedings of the 9th International Symposium on Digestive Physiology in pigs, Banff, Alberta, Canada*. 319-31.
36. Quezada-Mendoza, V., Heinrichs, A., & Jones, C. (2011). The effects of a prebiotic supplement (Prebio Support) on fecal and salivary IgA in neonatal dairy calves. *Journal of Livestock Science*, *142*, 222-228. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.07.015.
37. Ramezani, M., Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Abdibenemar, H., & Razmazar, V. (2018). The effects of conjugated linoleic acid and vitamin C on growth performance, some blood metabolites and blood cell counts of Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, *6*, 101-116. DOI:10.22069/ejrr.2018.14986.1634.
38. Roodposhti, P. M, & Dabiri, N. (2012). Effects of probiotic and prebiotic on average daily gain, fecal shedding of Escherichia Coli, and immune system status in newborn female calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*, 1255-1261. DOI:10.5713/ajas.2011.11312.
39. Schalm, O.W., Jain, N. C., & Carroll, E. J. (1975). Veterinary Hematology, 3rd ed., Philadelphia, pp, 487-556.
40. Solaiman, S. G., Shoemaker, C. E., & D'Andrea, G. H. (2006). The effect of high dietary Cu on health, growth performance, and Cu status in young goats. *Small Ruminant Research*, *66*, 85-91.

https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.024.
41. Suttle, N. (2010). Minral nutrition of livestock”4th Edition pp,426-4588. Midlothian Eh26
42. Swanson, K., Grieshop, C., Flickinger, E., Healy, H. P., Dawson, K. A., Merchen, N. R., Merchen, N. R., & Fahey Jr, G. C. (2002). Effects of supplemental fructooligosaccharides plus mannanoligosaccharides on immune function and ileal and fecal microbial populations in adult dogs. *Archives of Animal Nutrition*, *56*, 309-318. https://doi.org/10.1080/00039420214344.
43. Underwood, E. J., & Suttle, N. F. (1999). The mineral nutrition of livestock. 3rd edition. CABI Publishing Company. New York.
44. Zhang, W., Wang, R., Kleemann, D. O., Lu, D., Zhu, X., Zhang, C., & Jia, Z. (2008). Effects of dietary copper on nutrient digestibility, growth performance and plasma copper status in Cashmere goats. Small Ruminant Research, 74, 188-193. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.06.010